

LA FILOGEOGRAFÍA APLICADA EN LA CONSERVACIÓN DE FAUNA SILVESTRE: REVISIÓN Y RESULTADOS

PHYLOGEOGRAPHY APPLIED TO THE CONSERVATION OF WILD FAUNA: REVIEW AND RESULTS

Serna-Lagunes, R.¹; Clemente-Sánchez, F.^{2*}; Cortez-Romero, C.²; Becerril-Pérez, C.M.¹; Ramírez-Herrera, C.¹; Salazar-Ortiz, J.³

¹Colegio de Postgraduados, *Campus* Montecillo. Carr. México-Texcoco Km. 36.5, Texcoco, Estado de México. ²Colegio de Postgraduados, *Campus* San Luis Potosí. Iturbide No. 73, Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. ³Colegio de Postgraduados, *Campus* Córdoba. Km. 348 Carr. Fed. Córdoba-Veracruz. Amatlán de Los Reyes, Veracruz.

***Autor de correspondencia:** clemente@colpos.mx

RESUMEN

Con el objetivo de analizar los aportes de la filogeografía aplicada a la conservación de fauna silvestre se describen sus bases conceptuales, principios y objetivos mediante la revisión de diversos estudios filogeográficos en cérvidos, jaguares, monos, murciélagos, cocodrilos e insectos, mostrando los resultados más importantes en términos de diversidad haplotípica y nucleotídica, estructura genética y relaciones genealógicas. Como resultado de la aplicación de esta herramienta para la conservación de la especie se define el protocolo implementado en el estudio filogeográfico del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*), con el propósito de dar respuesta a la definición y distribución de las subespecies en México.

Palabras clave: ecología molecular, ADN_{mt} , genealogía de genes, filograma, conservación.

ABSTRACT

With the objective of analyzing the contributions made by applied phylogeography to the conservation of wild fauna, its conceptual bases, principles and objectives are described through the review of various phylogeographic studies on deer, jaguars, monkeys, bats, crocodiles and insects, showing the most important results in terms of haplotypic and nucleotide diversity, genetic structure, and genealogical relationships. As a result of applying this tool, strategies for conservation are exposed, and the protocol implemented in the phylogeographic study of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) is defined, to respond to the definition of subspecies and to contribute information for their conservation, management and exploitation.

Keywords: molecular ecology, ADN_{mt} , gene genealogy, phylogram, conservation.



INTRODUCCIÓN

Los autores

Avice et al. (1987) son reconocidos como pioneros en establecer los conceptos y técnicas de estudio de la filogeografía para la descripción de la micro y macroevolución de especies a partir de describir patrones demográficos, históricos y evolutivos. La filogeografía tiene diversas implicaciones que incluyen criterios de taxonomía, conservación de especies, identificación de Unidades Evolutivas Significativas (ESU por sus siglas en inglés) y de las Unidades Operativas de Conservación (OCU por sus siglas en inglés) (Domínguez-Domínguez y Vázquez-Domínguez, 2009). Los marcadores moleculares son imprescindibles en el diseño de estudios filogeográficos, siendo el ADN mitocondrial (ADN_{mt}) la molécula adecuada para este tipo de estudios, ya que exhibe características evolutivas intrínsecas y de herencia matrilineal, con escasa recombinación en comparación con los marcadores nucleares (Vázquez-Domínguez, 2007). El objetivo del estudio de la filogeografía son las secuencias de un gen o región del ADN_{mt} de los individuos muestreados en una población, llamado comúnmente haplotipo, los cuales muestran un patrón geográfico, al menos en la mayoría de estudios en vertebrados. El análisis de las variantes de estos haplotipos (polimorfismo) brinda un diagnóstico del estado actual de la diversidad genética de la población o poblaciones estudiadas. Otros análisis a una escala más "fina" permiten deducir los cambios demográficos históricos que experimentaron poblaciones, las cuales dieron origen a la diversidad genética observada (Young *et al.*, 2000). De igual manera otros análisis, como los filogramas (árbol de genes) y la genealogía de genes (red de haplotipos), apoyan hipótesis sobre la historia evolutiva de las especies (Avice, 2004; Vázquez-Domínguez *et al.*, 2009). En general, la filogeografía se ha utilizado para entender el lugar de origen y la dispersión de las especies, su adaptación a condiciones ambientales particulares (especiación), estructura de la población mediante el seguimiento de la genealogía de genes, su correlación con aspectos geográficos y/o ecológicos y la variación intra e interespecífica a nivel de población, subpoblaciones o entre poblaciones (Avice y Hamrick 1996). Este conocimiento resulta básico para entender la ecología y evolución molecular de las especies, así como para la identificación de poblaciones y la conservación de especies (Avice, 2010). Con los avances tecnológicos y la estandarización de protocolos en las técnicas moleculares se han incrementado los estudios en diversas especies de fauna silvestre que se distribuyen de forma natural en México. Esto ha permitido generar estrategias para la conservación de especies bajo riesgo y conocimiento que se aplican en beneficio tanto de salud pública como en la recuperación genética de animales que tiene un valor de uso para la sociedad y para el conocimiento de la riqueza biológica de México (Piñero *et al.*, 2008).

Bajo este contexto se realizó la revisión de los aportes generados en algunos estudios filogeográficos en fauna silvestre seleccionados, con el fin de mostrar el estado del arte en dicha temática y su contribución en la toma de decisiones sobre el manejo eficiente de la fauna silvestre mediante estudios que direccionan acciones importantes para la conservación de las especies y, en particular, la del venado cola blanca.

MATERIALES Y MÉTODOS

Marco estadístico en la reconstrucción filogeográfica de especies

La reconstrucción filogeográfica clásica se basó en la construcción de un árbol o clúster filogenético, también llamado filograma o genealogía de genes (Figura 1), que muestra las relaciones derivado de un marcador molecular (secuencias de un gen o región del ADN de interés; Hall, 2004). Existen protocolos para la construcción de filogramas en el desarrollo de un análisis filo

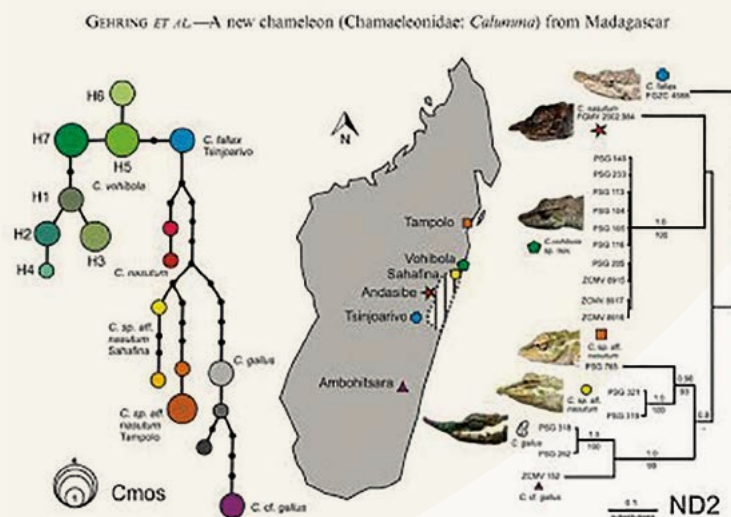


Figure 2. Results of a phylogenetic analysis of the mitochondrial ND2 gene (to the right), and haplotype network of the nuclear C-mos gene (to the left), with a map showing collection localities of *Culema* samples in Madagascar.

Figura 1. Red de haplotipos (izquierda) del gen ND2 para camaleones de Madagascar; mapa de colecta de las muestras (centro) y filograma (derecha) de las relaciones genealógicas de los camaleones (tomado de Gehring *et al.*, 2014).

geográfico, basados en algoritmos configurados en diversos programas de cómputo (Hall, 2004; Harrison y Langdale, 2006; Hall, 2013). Una vez obtenido el filograma se superpone en el espacio geográfico bajo estudio y mediante el análisis de su tipología permite detectar aquellas asociaciones significativas entre haplotipos y su distribución geográfica, que se pueden explicar con base en tres procesos: **a) aislamiento por distancia, debido a flujo génico restringido; b) fragmentación histórica; y c) expansión del área de distribución de las poblaciones, incluyendo eventos de colonización a distancia** (Beebe y Rowe, 2003; Vázquez-Domínguez, 2007). Para establecer filogramas genéticos se requiere del uso de secuencias de ADN sin recombinación, tales como el ADN_{mt} (Ballard y Whitlock, 2004). Se utilizan marcadores de herencia citoplasmática no mendeliana, como el de la mitocondria (ADN_{mt}), ya que el ADN es aportado por el gameto femenino y no se cuenta con información genética del gameto masculino; solo en pocas especies animales se ha detectado transmisión del ADN_{mt} a través del esperma (Anderson et al., 1995).

Principios y conceptos de la teoría filogeográfica

Como producto del análisis bibliográfico la filogeografía se define como el análisis espacial de los linajes genéticos para reconstruir la historia evolutiva *infra* o *inter* especies cercanamente emparentadas. Es una disciplina unificadora de la genética de poblaciones, así como de la filogenia y la evolución molecular (Lanteri y Confalonieri, 2003). Usa los métodos y las teorías de estas disciplinas orientadas al estudio de la historia demográfica para caracterizar la diversidad genética dentro

de una o más poblaciones, considerando siempre la escala geográfica y teniendo como principio la identificación de ESU's (Ryder, 1986), OCU's (Walsh, 2000) prioritarios para la conservación. Estos conceptos son aplicables con base en criterios del estado de la diversidad y distribución genética observada de poblaciones con bajos niveles de diversidad genética que son susceptibles de conservación y que requieren estrategias de manejo específicas y eficientes mediante un diseño adecuado que se fundamenta en la biología de la especie (Crandall et al., 2000). Los niveles de diversidad genética en las poblaciones a lo largo de su distribución y el grado en que genéticamente se encuentran estructuradas (diferenciadas) están determinados por aspectos biológicos propios de la especie, tales como ambientales, ecológicos, geográficos, geológicos, históricos y evolutivos (Arbogast y Kenagy, 2001). La filogeografía como disciplina de estudio ayuda a comprender los patrones que determinan la heterogeneidad de la distribución genética a lo largo del espacio geográfico de la especie y sus linajes (Vázquez-Domínguez et al., 2009). En el planteamiento de estudios filogeográficos es importante definir el área de estudio, considerando los posibles escenarios históricos y geográficos. También es importante conocer las características ecológicas de las especies y sus linajes que ahí se distribuyen. Para ello, se debe elegir el marcador molecular más adecuado al tipo de información que se desea obtener, ya que para un análisis filogeográfico se utilizan, estrictamente, datos moleculares del ADN de ejemplares de la especie (o sus linajes, p. ej. subespecies) a lo largo de su distribución. En su gran mayoría, los análisis filogeográficos

están contextualizados en el análisis de secuencias de ADN mitocondrial (ADN_{mt}) que permiten inferir los aspectos históricos que han modelado la diversidad de los linajes genealógicos de las poblaciones en su distribución geográfica (Avice, 2000).

Filogeografía y coalescencia

La filogeografía se apoya en la teoría de la **coalescencia**, la cual provee un marco conceptual estadístico para el estudio de los procesos evolutivos que influyeron históricamente en las poblaciones y que dieron lugar a la diversidad genética observada. La coalescencia es entonces un modelo que separa linajes (remontados en el tiempo) hasta encontrar el ancestro común (Harding, 1996). El tiempo de coalescencia o punto donde los linajes se separan está influenciado por factores que operan a nivel poblacional como, por ejemplo, cambios en el tamaño de las poblaciones, selección natural o dinámica del flujo génico. La coalescencia integra, además, el tratamiento matemático y estadístico adecuado para el análisis de las genealogías génicas, dentro y entre especies próximas (Felsenstein, 1971; Griffiths, 1980). En este sentido, la teoría de coalescencia hace que la interpretación de la filogeografía se piense y exprese de manera diferente a la teoría tradicional de genética de poblaciones; es decir, considera que las mutaciones neutras (teoría de la neutralidad) se acumulan a lo largo de las ramas del filograma, las cuales representan los linajes génicos (Kimura y Ohta, 1969; Kimura, 1980).

Construcción de filogramas

En filogeografía se aplican algoritmos de **parsimonia o de máxima verosimilitud**, los cuales se pueden implementar en programas de

cómputo (Excoffier y Heckel, 2006), y en un filograma la longitud de las ramas expresa la cantidad de cambios evolutivos. Templeton y Sing (1993) y Templeton (1998, 2001) proponen el análisis complementario denominado **"análisis cladístico anidado"**, el cual permite detectar y probar estadísticamente los mecanismos evolutivos responsables de la distribución espacial de los patrones de la diversidad genética y, básicamente, convierte el filograma en una red de "clados anidados" (también llamada red de haplotipos). La red de genes incluye clados, donde cada nivel sucesivo en jerarquía se considera más antiguo que los niveles inferiores actuales (Figura 1) (Knowles y Maddison, 2002; Templeton, 2004).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Filogeografía y conservación en especies de fauna silvestre

Ungulados: ciervos (*Cervus elaphus*; *Pudu puda*; *Odocoileus hemionus*; *Capreolus pygargus*; *Capreolus capreolus*; *Alces alces*)

En ciervo rojo (*Cervus elaphus*) se comparó la filogeografía de las poblaciones de China con las distribuidas en Asia, Europa y Norteamérica (Figura 2 A). Se evidenció la existencia de dos linajes donde las poblaciones del Este son diferentes a las del Oeste, lo cual es congruente con su distribución histórica, y se identificó que la migración de este cérvido fue desde el Norte de Eurasia a Norteamérica (Mahmut *et al.*, 2002). Otro estudio realizado con esta especie mostró que los efectos del cambio climático ocurridos durante el Pasado Glacial Máximo (PGM) llevaron a restringir geográficamente a las poblaciones hacia el Sureste de Europa y el Este de Asia, lo cual hizo consistentes las divergencias

genéticas entre las poblaciones de estas dos áreas (Meiri *et al.*, 2013).

En el caso del ciervo pudú (*Pudu puda*) endémico de Chile y Argentina se encontró una clara divergencia entre la población de la Isla Chiloé con respecto a las poblaciones distribuidas en el continente, debido al evidente aislamiento geográfico ocurrido durante el PGM, lo que ha llevado a proponer que se trata de dos subespecies (una insular y otra continental), y a considerar programas de conservación específicos (Fuentes-Hurtado *et al.*, 2011). Otro cérvido que ha sido objeto de investigación es el venado bura (*Odocoileus hemionus*), del que se demostró que aparentemente existen tres ESU de manejo genético distinto, lo que permitió recomendar la preservación de los procesos evolutivos naturales, incrementar el flujo génico entre poblaciones con haplogrupos similares y aumentar el tamaño poblacional para evitar la reintroducción de individuos de distintos linajes que merman la diversidad genética (Torres, 2012). Se ha investigado también el polimorfismo del ADN_{mt} en el corzo siberiano (*Capreolus pygargus*) y el corzo europeo *C. capreolus* (Figura 2 B), encontrando divergencia genética que permitió separar ambas especies, información de utilidad para proponer planes de conservación para la supervivencia de estas especies en riesgo (Randi *et al.*, 1998). Se consideraba que existían dos subespecies de alce (*Alces alces*) definidas geográficamente; los datos rechazaron esa hipótesis dado que la divergencia entre las supuestas razas se debe a recientes "cuellos de botella", así como al reducido tamaño efectivo de la población y a una expansión de esta última con linajes extintos (Hundertmark *et al.*, 2002).

En pecarí de collar (*Pecari tajacu*) se evidenció la expansión del rango de la especie como principal proceso histórico que moldeó la diversidad genética observada en la distribución geográfica de este ungulado, información que permitió proponer tres unidades genéticas de manejo y la existencia de una posible hibridación entre linajes de la especie (Gongora *et al.*, 2006).



Figura 2. A: Hembras y crías de ciervo rojo (*Cervus elaphus*) en un rancho cinegético en España. B: Trofeo de corzo (*Capreolus pygargus*) cosechado por aprovechamiento cinegético en España.

Carnívoros: jaguar (*Panthera onca*) y oso negro (*Ursus americanus*)

El jaguar (*Panthera onca*) es el felino más grande de América; muestra una alta diversidad nucleotídica y muy alta diversidad haplotípica, cuya relación es indicadora de recientes cuellos de botella por la escasa estructura poblacional y evidente divergencia entre poblaciones, influenciado por el flujo genético, ya que aparentemente no existe barrera geográfica que impida el libre movimiento de los individuos. El jaguar puede considerarse una OCU, lo que implica la conservación de los corredores biológicos que ocupa esta especie para desplazarse, por lo que las estrategias de conservación del jaguar debe mantener altos niveles de flujo de genes a través de la conexión de áreas geográficas amplias (Eizirik *et al.*, 2001). Se piensa que las poblaciones de oso negro (*Ursus americanus*) se refugiaron en el Pacífico y Atlántico por las condiciones climáticas de la última glaciación. Estudios recientes muestran que las poblaciones mexicanas de este úrsido provienen del linaje del Atlántico, lo cual es congruente con la hipótesis de que la estructura genética del oso se generó cuando ocurrió la última glaciación. Los esfuerzos de conservación para proteger sus poblaciones en México consideran el mantenimiento del hábitat del oso en el Atlántico (Juárez-Casillas *et al.*, 2013).

Reptiles: serpientes (*Senticolis spp*) y tortugas (*Chelonia mydas* y *Caretta caretta*)

Los estudios de linajes infraespecíficos (a nivel de subespecie) en serpientes muestran interesantes patrones de diversidad genética. Por ejemplo, las subespecies de *Senticolis triaspis*: *S. t. triaspis* y *S. t. mutabilis* mostraron divergencia genética, congruente con la distancia geográfica, mientras que la subespecie *S. t. intermedia* presentó una mayor diversidad genética con varias agrupaciones dentro de ella. Dado que se sospecha que existen algunas divergencias genéticas debido a factores ecológicos, se plantea la incorporación del análisis del nicho ecológico como un estudio adicional para esclarecer las causas de la divergencia (Roth-Monzón, 2013). En tortugas marinas (*Chelonia mydas* y *Caretta caretta*) un estudio destacó la presencia de haplotipos endémicos, presentando diferenciación genética que estuvo positivamente correlacionada con la distancia geográfica entre las colonias de anidación en Cuba, en congruencia con los patrones de corrientes marinas. Dado que se detectó que las tortugas comparten un pasado histórico común con las restantes poblaciones que anidan de la región, se propuso como ESU con manejo singular que se evite la pérdida del pool genético de estas especies (Ruiz, 2008).

Otras especies de fauna silvestre

En armadillos (*Dasypus novemcinctus*) se ha demostrado que los factores históricos a través de cambios climáticos y el tamaño de población han moldeado los patrones de estructura y diversidad genética de esta especie, infiriendo que su comportamiento filopátrico se debe a la demografía histórica de las poblaciones y a la reciente formación de linajes. Una de las estrategias de conservación del nicho ecológico del armadillo fue facilitar el flujo genético entre grupos con distribución disyunta (Arteaga *et al.*, 2012). En otras especies como roedores, particularmente en la subespecie *Oryzomys couesi cozumelae*, ratón endémico de la isla de Cozumel, México, se encontraron inesperados altos niveles de diversidad genética. Es decir, las poblaciones

de este ratón no se han visto genéticamente afectadas según lo esperado en especies isleñas que se caracterizan por presentar pérdida de diversidad genética, incremento de la endogamia y flujo génico reducido. Con esta información se unieron esfuerzos para conservar la biota de Cozumel (Vega *et al.*, 2007). Varios estudios en primates mexicanos han demostrado que sus poblaciones han sido drásticamente disminuidas por la severa deforestación de los bosques tropicales en los últimos 60 años, junto con la caza ilegal y comercio no autorizado para su uso como mascotas. Los estudios filogeográficos de primates han permitido responder preguntas evolutivas a nivel de género, con una mejor comprensión de la filogenia de las especies, y el desarrollo de estrategias más efectivas para la conservación y supervivencia de los monos distribuidos en México (Argüello-Sánchez y García-Feria, 2014). El murciélago pescador (*Myotis vivesi*) es una especie endémica y en riesgo de extinción distribuida en las Islas del Golfo de California, México. Sus poblaciones muestran una marcada estructura poblacional, sin aislamiento por distancia, lo que sugiere una dispersión diferencial entre sexos. Este resultado es interesante ya que se infiere que la estructura genética de la población es determinada por el sexo del murciélago, debido a que los machos y hembras no tienen la misma capacidad de dispersión (Stadelmann *et al.*, 2004).

La filogeografía del ave trepatroncos de corona punteada (*Lepidocolaptes affinis*) está influenciada por barreras geográficas que moldean la estructura genética de las poblaciones de esta especie en México y Costa Rica. La población en México

está compuesta por dos linajes diferentes, mientras que en Costa Rica no mostró evidente separación de linajes debido al cuello de botella genético de esta población. En principio, esta información explicó cómo los linajes se han separado evolutivamente en el espacio geográfico, conceptualizándolas como ESU susceptibles de conservación (Arbeláez-Cortés *et al.*, 2010). En escarabajos (*Epicauta uniforma* y *E. stigmata*) se investigó si la distribución geográfica de la diversidad genética de poblaciones está asociada a la variación morfológica observada, encontrando una nula relación significativa entre estas escalas de variación. Con estos datos se concluyó que estas especies nominales no son recíprocamente monofiléticas y constituyen una misma ESU, teniendo implicaciones en su taxonomía y conservación (Salvador de Jesús, 2013). En peces pelágicos migratorios, como el pez delfín (*Coryphaena hippurus*), no fue posible observar claramente una diferenciación genética entre poblaciones del Indo-Pacífico y las poblaciones del Atlántico, como se ha documentado en la mayoría de las especies pelágicas tropicales de atún y peces picudos. Dada la importancia de este pez como recurso se han establecido unidades de pesca para la administración de pesquerías (Díaz-Jaimes *et al.*, 2010).

Protocolo de estudio filogeográfico del venado cola blanca (*Odocoileus virginianus*) en México

En el laboratorio de Reproducción y Genética de Fauna Silvestre del Colegio de Postgraduados, Campus San Luis Potosí, desde 2012 se lleva a cabo un estudio sobre la filogeografía del venado cola blanca (*Odocoileus*

virginianus) en México (Figura 3) con el propósito de definir las subespecies distribuidas en México y explicar los cambios que se han producido a través del tiempo, y soportar tanto la definición como la distribución geográfica de las subespecies. A la fecha son 11 subespecies identificadas con su filogeografía definida, quedando tres en estudio para tener completo el análisis de las 14 subespecies reportadas en la literatura. El esquema filogeográfico se sintetiza en el Cuadro 1 el cual marca importantes secuencias para el manejo y conservación de la especie en México por su importancia ecológica y valor económico en actividades cinegéticas.

CONCLUSIONES

El campo del conocimiento de la filogeografía es reciente y es uno de los más dinámicos en el ámbito nacional e internacional por sus implicaciones y los servicios que ofrece para la conservación de la fauna silvestre. Se considera que los avances en ciencia y tecnología sobre el tema de diversidad genética, además de los programas de capacitación de recursos humanos en México, contribuyen sustancialmente a conservar la diversidad biológica y en la definición de nuevas políticas enfocadas a la conservación de especies con potencial de uso y otras de bajo riesgo.

AGRADECIMIENTOS

Al Conejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México por su apoyo para la realización del presente trabajo como parte del proyecto Conservación de la Diversidad Genética y Mejora del Venado Cola-Blanca en México. Fondo Sectorial SEP-CONACYT, Investigación Básica.

LITERATURA CITADA

- Anderson T.J.C., Komuniecki R., Komuniecki P.R. Jaenike J. 1995. Are mitochondria paternally inherited in *Ascaris*? *International Journal for Parasitology*. 25: 1001-1004.
- Arbeláez-Cortés E., Nyári Á.S., Navarro-Sigüenza A.G. 2010. The differential effect of lowlands on the phylogeographic pattern of a Mesoamerican montane species (*Lepidocolaptes affinis*, Aves: Furnariidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 57: 658-668.
- Arbogast B.S., Kenagy G.J. 2001. Comparative phylogeography as an integrative approach to historical biogeography. *Journal of Biogeography*. 28: 819-825.
- Argüello-Sánchez L.E., García-Feria L.M. 2014. La genética como herramienta para el estudio y conservación del género *Alouatta* en México. *Acta Zoológica Mexicana* (n. s.). 30(2): 387-394.
- Arteaga M.C., Piñero D., Eguiarte L.E., Gasca J., Medellín R.A. 2012. Genetic structure and diversity of the nine-banded armadillo in Mexico. *Journal of Mammalogy*. 93: 547-559.



Figura 3. Venado cola blanca texano (*Odocoileus virginianus texanus*) que se distribuye en la región noreste de México.

Cuadro 1. Protocolo para el estudio filogeográfico de *Odocoileus virginianus*.

Trabajo de campo	Delimitación del (las) área(s) geográfica(s) de estudio Región Certo-Norte, Centro-Sur y Pacífico Mexicano		Colecta de material biológico Tejido sanguíneo, músculo, hígado, corazón, piel, heces, cornamenta, etc.
Trabajo de laboratorio	Extracción de ADN Kit comercial o Protocolo convencional	Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) Agua grado PCR, Buffer para PCR, MgCl ₂ , dNTPs, Primers (gen del ADN _{mt}), Taq polimerasa y ADN molde	Secuenciación Purificación de productos PCR Secuenciación capilar
Inspección de secuencias	Supervisión de cromatogramas Software: Chromas Lite v. 2.1.1 Alineamiento de las secuencias Software: Clustal X instalado en MEGA v. 6		Identidad de secuencias Método Basic Local Alignment Search Tool Software en GenBank (National Center for Biotechnology Information)
Parámetros básicos de diversidad genética	Análisis de las secuencias Sitios polimórficos; transiciones, transversiones, composición nucleotídica Software: Arlequin v. 3.3.1		Índices de diversidad genética Diversidad haplotípica y nucleotídica; haplotipos únicos y compartidos; Tajima D Software: Arlequin v. 3.3.1 Mismatch distribution con Software: DnaSP v.5
Análisis de divergencia y distribución de la diversidad genética	Estructura genética AMOVA jerárquico y por grupos regionales; FST y flujo genético Software: Arlequin v. 3.3.1 Relación genética-geográfica (Análisis de escalamiento multidimensional) Software: SPSS v. 15.0		Genética espacial Aislamiento por distancia (Prueba de Mantel) Software: GenAlEx v. 6.5
Inferencia filogenética y de procesos evolutivos	Relaciones filogenéticas Modelo de sustitución de nucleótidos. Construcción de filograma con Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud, Neighbor-joining Software: MEGA v. 6		Genealogía de genes Red de haplotipos usando parsimonia estadística Software: TCS 1.21

Avise J.C., Hamrick J.L. 1996. Conservation Genetics: case histories from Nature. Chapman & Hall, New York. 512 p.

Avise J.C. 2000. Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press, Cambridge, United Kingdom. 447 pp.

Avise J.C., Jonathan J., Ball R., Bermingham E., Lamb T., Neigel J., Reeb C., Saunders N. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Ann. Rev. Ecol. System. 18:489-522.

Avise J.C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Second edition. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts.

Avise J.C. 2010. Molecular Ecology and Evolution: the Organismal Side. World Scientific Publishing, Singapore. 561 p.

Ballard O. J.W., Whitlock M.C. 2004. The incomplete natural history of

mitochondria. Molecular Ecology. 13: 729-744.

Beebe T., Rowe G. 2003. An introduction to molecular ecology. Oxford. Oxford University Press.

Crandall K., Bininda-Emonds O., Mace G., Wayne R. 2000. Considering evolutionary processes in conservation biology. Tree. 15: 290-295.

Díaz-Jaimes P., Uribe-Alcocer M., Rocha-Olivares A., García-de-León F.J., Nortmoon P. Durand J.D. 2010. Global phylogeography of the dolphinfish (*Coryphaena hippurus*): The influence of large effective population size and recent dispersal on the divergence of a marine pelagic cosmopolitan species. Molecular Phylogenetics and Evolution. 57(3): 1209-1218.

Domínguez-Domínguez O., Vázquez-Domínguez E. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. Animal Biodiversity and Conservation. 32(1): 59-70.

Eizirik E., Kim J.H., Menotti-Raymond M., Crawshaw J.R., O'Brien S.J., Johnson W.E. 2001. Phylogeography, population history and conservation genetics of jaguars (*Panthera onca*, Mammalia, Felidae). Molecular Ecology. 10: 65-79.

Excoffier L., Heckel G. 2006. Computer programs for population genetics data analysis: a survival guide. Nature Reviews Genetics. 7: 745-758.

Felsenstein J. 1971. The rate of loss of multiple alleles in finite haploid populations. Theoretical Population Biology. 2: 391-403.

Fuentes-Hurtado M., Marín J.C., González-Acuña D., Verdugo C., Vidal F., Vianna J.A. 2011. Molecular divergence between insular and continental Pudu deer (*Pudu puda*) populations in the Chilean Patagonia. Studies on Neotropical Fauna and Environment. 46(1): 23-33.

Gongora J., Morales S., Bernal J.E., Moran C. 2006. Phylogenetic divisions among

- Collared peccaries (*Pecari tajacu*) detected using mitochondrial and nuclear sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 41: 1-11.
- Griffiths R.C. 1980. Lines of descent in the diffusion approximation of neutral Wright-Fisher models. *Theoretical Population Biology*. 17: 40-50.
- Juárez-Casillas L.A., Varas C., Cervantes F.A. 2013. Análisis filogenético del linaje evolutivo del oso negro (*Ursus americanus*) de México. *THERYA*. 4(3): 467-484.
- Hall B.G. 2004. *Phylogenetic trees made easy: A how-to manual*. Sunderland (MA): Sinauer Associate 221 p.
- Hall B.G. 2013. Building phylogenetic trees from molecular data with MEGA. *Molecular Biology and Evolution*. 30(5): 1229-1235.
- Harding R.M. 1996. New phylogenies: An introductory look at the coalescent. *In*: New uses for new phylogenies. Harvey, P. H., A. J. Leigh Brown, J. Maynard Smith and S. Nee (Eds.). Oxford University Press, Nueva York. Pp. 15-22.
- Harrison C.J., Langdale J.A. 2006. A step by step guide to phylogeny reconstruction. *The Plant Journal*. 45: 561-572.
- Hundertmark J.K., Shields G.F., Udina I.G., Bowyer R.T., Danilkin A.A., Schwartz C.C. 2002. Mitochondrial phylogeography of Moose (*Alces alces*): late Pleistocene divergence and population expansion. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 22(3): 375-387.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular and Evolution*. 16: 111-120.
- Kimura M., Ohta T. 1969. The average number of generations until fixation of a mutant gene in a finite population. *Genetics*. 61: 763-771.
- Knowles L.L., Maddison W.P. 2002. Statistical phylogeography. *Molecular Ecology*. 11: 2623-2635.
- Lanteri A.A., Confalonieri V.A. 2003. Filogeografía: objetivos, métodos y ejemplos. *En*: Una perspectiva Latinoamericana de la Biogeografía: Conceptos, teorías, métodos y aplicaciones. Llorente-Bousquets y J.J. Monrroe (Eds.). Facultad de Ciencias. UNAM. México. Pp. 118-193.
- Mahmut H., Masuda R., Onuma M., Takahashi M., Nagata J., Suzuki M., Ohtaishi N. 2002. Molecular phylogeography of the Red Deer (*Cervus elaphus*) populations in Xinjiang of China: comparison with other Asian, European, and North American Populations. *Zoological Science*. 19(4): 485-495.
- Meiri M., Lister A.M., Higham T.F.G., Stewart J.R., Straus L.G., Obermaier H., González M.R. M., Marín-Arroyo A.B., Barnes I. 2013. Late-glacial recolonization and phylogeography of European red deer (*Cervus elaphus* L.). *Molecular Ecology*. 22: 4711-4722.
- Piñero D., Barahona A., Eguiarte L., Rocha A. O., Salas R.L. 2008. La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. *En*: Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO. México. Pp. 415-435.
- Randi E., Pierpaoli M., Danilkin A. 1998. Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*). *Heredity*. 80: 429-437.
- Roth-Monzón A.J. 2013. Filogeografía de la serpiente *Senticolis triaspis* (Squamata: Colubridae). Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Ruiz U.A. 2008. Genética poblacional y filogeografía de *Caretta caretta* (Linnaeus, 1758) y *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758): una perspectiva regional con énfasis en el suroeste de Cuba. Tesis de Doctorado en Ciencias Biológicas. Centro de Investigaciones Marinas. Universidad de La Habana. Cuba.
- Salvador de Jesús B.V. 2013. Filogeografía de *Epicauta* (Macrobasis) *stigmata* (Dugés, 1869) (Coleoptera: Meloidae) y resolución de problemas taxonómicos en el grupo de *Epicauta* (Macrobasis) *uniforma* sensu Werner, 1958. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. 91 p.
- Ryder O.A. 1986. Species conservation and systematic: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*. 1: 9-10.
- Stadelmann B.L., Herrera G., Arroyo-Cabrales J., Flores-Martínez J.J., May B.P., Ruedi M. 2004. Molecular systematics of the Fishing Bat *Myotis* (Pizonyx) *vivesi*. *Journal of Mammalogy*. 85(1): 133-139.
- Templeton A.R. 1998. Nested clade analyses of phylogeographic data: Testing hypotheses about gene flow and population history. *Molecular Ecology*. 7: 381-397.
- Templeton A.R. 2001. Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes. *Molecular Ecology*. 10: 779-791.
- Templeton A.R. 2004. Statistical phylogeography: methods of evaluating and minimizing inference errors. *Molecular Ecology*. 13:789-809.
- Templeton A.R., Sing C.F. 1993. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. IV. Nested analyses with cladogram uncertainty and recombination. *Genetics*. 134: 659-669.
- Torres O.J.D. 2012. Filogeografía y genética de la conservación del venado bura (*Odocoileus hemionus*) en México. Tesis de Licenciatura en Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. 74p.
- Vázquez-Domínguez E. 2007. Filogeografía y vertebrados. *En*: Ecología Molecular. Eguiarte, L.E., V. Souza y X. Aguirre (compiladores). Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México. Pp. 441-466.
- Vázquez-Domínguez E., Castañeda-Rico S., Garrido-Garduño T., Gutiérrez-García T.A. 2009. Avances metodológicos para el estudio conjunto de la información genética, genealógica y geográfica en análisis evolutivos y de distribución. *Revista Chilena de Historia Natural*. 82(2): 277-297.
- Vega R., Vázquez-Domínguez E., Mejía A., Cuarón A.D. 2007. Unexpected high levels of genetic variability and the population structure of an island endemic rodent (*Oryzomys couesi cozumelae*). *Biological Conservation*. 137: 210-222.
- Walsh P.D. 2000. Sample size for the diagnosis of conservation units. *Conservation Biology*. 14(5): 1533-1537.
- Young A.G., Clarke G.M., Cowlshaw G., Woodroffe R. 2000. Genetics, demography and viability of fragmented populations (Conservation Biology). Cambridge University Press 456 p.